



TITLE:

# 尿路上皮癌におけるE-カドヘリン の発現と浸潤・転移の検討

AUTHOR(S):

川喜田, 睦司; 諸井, 誠司; 京谷, 京子; 笥, 善行; 吉田,  
修

---

CITATION:

川喜田, 睦司 ...[et al]. 尿路上皮癌におけるE-カドヘリンの発現と浸潤・  
転移の検討. 泌尿器科紀要 1994, 40(12): 1077-1080

ISSUE DATE:

1994-12

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/115418>

RIGHT:

## 尿路上皮癌における E-カドヘリンの 発現と浸潤・転移の検討

京都大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 吉田 修教授)

川喜田 睦司, 諸井 誠司, 京谷 京子\*

寛 善行, 吉田 修

### STUDY ON E-CADHERIN EXPRESSION IN RELATION TO INVASION AND METASTASIS IN UROTHELIAL CANCER PATIENTS

Mutsushi Kawakita, Seiji Moroi, Kyoko Kyotani,  
Yoshiyuki Kakehi and Osamu Yoshida

*From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyoto University*

E-cadherin expression was investigated in 30 patients with urothelial cancer (bladder; 27, ureter; 2, urethra; 1) by an immunohistochemical method. Twelve out of 22 patients with strong and homogeneous expression of E-cadherin (preserved) had grade 1 tumors, while all 8 patients with heterogeneous, weak and homogeneous, or lost expression of E-cadherin (reduced) had grade 2 or grade 3 tumors. Only 2 out of 22 patients with preserved expression had invasive tumors ( $\geq pT2$ ), whereas 6 out of 8 patients with reduced expression had invasive tumors ( $p=0.002$ ). Three out of 4 patients with metastasis had reduced expression and 2 of them died. These findings suggest that urothelial tumors with reduced expression of E-cadherin have high grade and high stage, and E-cadherin expression could be one of the prognostic factors.

(Acta Urol. Jpn. 40: 1077-1080, 1994)

**Key words:** E-cadherin, Adhesion molecule, Urothelial cancer, Bladder cancer, Immunohistochemistry

#### 緒 言

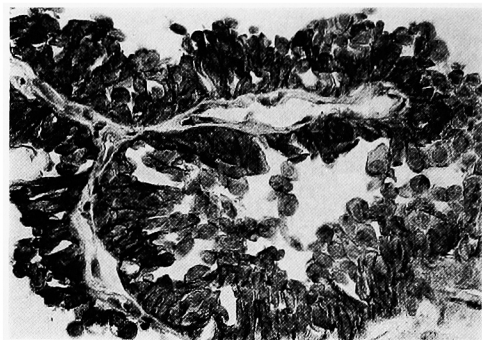
細胞間接着因子であるカドヘリンは  $Ca^{++}$  存在下で強い接着力を持つ。そのサブクラスのひとつである E-カドヘリン (E-CD) は上皮細胞の細胞膜に発現し、細胞間接着および組織構築に重要な役割をはたしており、その発現の減弱が癌の浸潤・転移に深く関係することが報告されている<sup>1-3)</sup>。今回尿路上皮癌における E-CD の発現と浸潤性・転移性について検討したので報告する。

#### 対 象 と 方 法

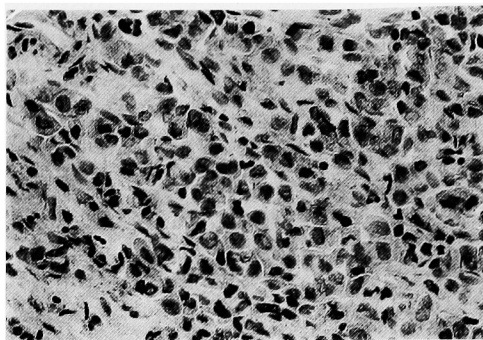
対象は1989年6月から1993年10月までに当教室で治療した尿路上皮癌30例で、原発部位は、膀胱27例、尿管2例、尿道1例であった。新鮮手術標本を2%パラ

ホルムアルデヒドで30分間固定、12%、15%、18%蔗糖に順次30~40分間浸漬し脱水した後、OCT compound (Miles scientific) に包埋し液体窒素にて迅速凍結した。これを cryostat にて 5~6  $\mu m$  に薄切し風乾した。抗ヒト E-カドヘリンモノクローナル抗体 (宝酒造) を用いて avidin biotin peroxidase complex (ABC) 法にて免疫組織染色を行った。ABC 法には Vectastain ABC キット (フナコシ) を使用し、diaminobenzidine  $\cdot H_2O_2$  にて褐色に発色させた。各反応過程の洗浄は TBS (pH 7.6) にて行い、核染色は hematoxylin により行った。カドヘリンの発現は、Shiozaki らの分類<sup>4)</sup>に従い、染まり方が一樣でないもの heterogeneous、一樣ではあるが減弱しているもの weak and homogeneous、まったく染まらないもの lost、の3型をまとめて reduced とし、一樣に強く染まるものを preserved とした (Fig. A, B)。

\* 現: 小坂病院



A



B

Fig. Immunohistochemical evaluation of E-cadherin expression using anti-E-cadherin monoclonal antibody ( $\times 200$ )

- A: Superficial transitional cell carcinoma (G1, pTa) with strong and homogeneous E-cadherin expression (preserved).  
 B: Invasive poorly differentiated carcinoma (G3, pT3) with heterogeneous E-cadherin expression (reduced)

カドヘリンの発現の仕方と, grade, stage, 転移の有無, 発育様式, 多発性, 再発性, 細胞診, 予後との関連を検討した. 有意差は  $\chi^2$  検定により, 生存率は Kaplan-Meier 法により算出した.

## 結 果

対象患者の年齢は48~85歳(平均67歳), 観察期間は1~50カ月(平均19カ月)であった. 術式は, 経尿道的切除術 23例, 膀胱(尿道)全摘除術 6例, 腎尿管全摘除術 1例であった. 病理所見は, 移行上皮癌が28例のうち扁平上皮癌を2例に認めた. ほかに移行上皮癌と扁平上皮癌の混在が1例, 未分化癌が1例であった. 病理学的悪性度は, grade 1: 12例, grade 2: 12例, grade 3: 6例で, 病期は, pTa: 17例, pT1: 5例, pT2: 1例, pT3: 4例, pT4: 3例であった. 転移は4例に認め, リンパ節2例(pT4N1M0), 肺1例(pT3N0M1), 骨1例(pT4NxM1)であった.

カドヘリンの発現が preserved されているものが22例, reduced しているものが8例であった. 組織学的悪性度とカドヘリンの発現の関係をみると, grade 1の12例全例が preserved であるのに対し, gradeが高くなるにつれ reduced の割合が高くなっている(Table 1). 局所浸潤度とカドヘリンの発現の関係をみると, pTaの17例全例が preserved であるのに対し, pT1以上の病理学的浸潤癌13例中8例が reduced であった( $p=0.0008$ , Table 2). また表在性のもの(pTaまたはpT1)22例中20例までが preserved であったが, pT2以上の臨床的浸潤癌の8例のうち6例が reduced であった( $p=0.002$ , Table 2).

Table 1. E-cadherin and grade

Grade	E-cadherin		p value
	Preserved	Reduced	
1	12	0	0.009
2	8	4	
3	2	4	

Table 2. E-cadherin and pT stage

pT stage	E-cadherin		p value
	Preserved	Reduced	
pTa	17	0	0.0008
pT1-4	5	8	
pTa, 1	20	2	0.002
pT2-4	2	6	

乳頭状癌24例中20例が preserved であるのに対し, 非乳頭状癌6例中4例が reduced であり, 非乳頭状癌においてカドヘリンの発現が減弱していた( $p<0.05$ ). 細胞診は, preserved の22例中10例に陽性であったが, reduced の8例中7例に陽性であった( $p=0.2$ ). 転移は preserved の1例, reduced の3例にみえており有意差はなかった( $p=0.08$ ). 肺転移の症例では原発巣が heterogeneous であるのに対し, 転移巣は preserved であった. reduced の2例が死亡しており, 3年生存率は preserved が100%, reduced が60%であった( $p=0.05$ ). 初発か再発性か, 単発性か多発性かはカドヘリンの発現と相関を認めなかった.

## 考 察

多くの悪性腫瘍の起源となる上皮細胞の細胞間の結

合は非常に強く、この細胞間の接着の中心的役割をはたしているのがカドヘリンである。カドヘリンは膜貫通蛋白質で、10以上のタイプがある<sup>1)</sup>。細胞内ドメインには  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -カテニンおよびブラコグロビンと呼ばれる分子が結合して複合体を形成し、カテニンを介して細胞骨格系と相互作用している<sup>2)</sup>。細胞間接着分子にはほかに免疫グロブリンスーパーファミリー、インテグリン、セレクトリンなどがあるが、カドヘリンが機能しているかぎり他の因子はほとんど細胞間接着に影響しない<sup>3)</sup>。

ヒトの癌組織におけるカドヘリンの発現について最近いくつかの報告がみられる<sup>3,6-8)</sup>。塩崎らは、癌細胞における E-カドヘリンの発現を、preserved type (非減弱例) と reduced type (減弱例) に分けて、食道癌、胃癌、乳癌の臨床例について検討している<sup>9)</sup>。それによると食道癌の83%、胃癌の55%、乳癌の58%が reduced でしかも低分化型に有意に reduced が多かった。胃癌においては浸潤傾向の弱い  $\text{INF}\alpha$ ,  $\beta$  の34%、浸潤傾向の強い  $\text{INF}\gamma$  の87%が reduced であった。リンパ節転移についても reduced に多くみられているが、興味あるのは、原発巣が reduced でも転移巣が preserved であったものを約半数に認めており、また胃癌の肝転移7例のうち4例までが preserved であったことから、カドヘリンで強固に接着した小細胞集団塊が転移先で生着しやすいのではないかと述べている。われわれの症例のうち転移症例は4例と少ないが、3例までは reduced であった。肺転移の1例では原発巣が reduced で転移巣が preserved であり膀胱癌でも同様の傾向があるのかどうか、今後症例を重ねて検討が必要である。今回の尿路上皮癌の検討では、reduced の8例全例が基底膜をこえる浸潤癌でそのうち6例が pT2 以上であったのに対し、preserved の22例中20例 (91%) が pT1 までの表在性で、E-カドヘリンが減弱しているものに浸潤性のものが有意に多かった。また grade に関しても reduced には grade 1 が1例もなく減弱例ほど悪性度が高かった。従って E-カドヘリンの発現は尿路上皮癌の悪性度・浸潤度を反映していることが示された。Nijmegen 大学の Bringuier らも49例の膀胱癌の検討でこれと同様の結果を報告している<sup>7)</sup>。かれらはさらに生存率において、preserved が80%の3年生存率であるのに対し reduced が30%以下であり、有意に reduced の方が予後が悪く、カドヘリンが予後因子のひとつになりうるとしている。同研究グループは前立腺癌についても同様の結果を出している<sup>8)</sup>。Carter らは28例の前立腺癌組織の染色体を検索し、

31%に16番の長腕の対立遺伝子の欠損を認め<sup>9)</sup>、そして E-カドヘリンの gene が 16q22.1 にあることから<sup>10)</sup> その関連性に注目している。Vlaminckx らは、イスの腎およびマウスの乳腺由来の腫瘍細胞株に E-カドヘリンの cDNA を transfect すると浸潤性が減少し、抗 E-カドヘリン抗体を投与することにより再び浸潤性を獲得することを認め、E-カドヘリン gene は invasion suppress gene であるとしている<sup>11)</sup>。

カドヘリンの発現の仕方に違いがでてくるのはどのようなメカニズムによるものなのかという点についても研究が進んでいる。Doki らはヒト食道癌細胞株に、円形の細胞で cobblestone colony を形成する株と、紡錘形でばらばらの colony を形成する株があることを示し、少なくともふたつの clone があると述べている<sup>12)</sup>。Shimoyama らは胃癌において E-カドヘリンが強く発現しているにもかかわらず、その細胞間接着が弱いことを認め、E-カドヘリンの機能に問題があることを示唆した<sup>13)</sup>。そして E-カドヘリンが発現しているも細胞間接着の弱いヒト肺癌細胞株において、 $\alpha$ -カテニンが発現していないことを示した<sup>14)</sup>。前立腺癌においても浸潤性の細胞株では E-カドヘリン、 $\alpha$ -カテニンいずれかが減弱していることが認められている。PC-3 では E-カドヘリンが発現するも  $\alpha$ -カテニンの完全消失を認め、これは  $\alpha$ -カテニン gene のホモ接合体の欠損であることが示された<sup>15)</sup>。また、肺癌の細胞株においてムスカリンアセチルコリンレセプターが E-カドヘリンの発現を統制していることが示され<sup>16)</sup>、カドヘリンの機能制御に関してはまだまだ未知の部分が多いものと思われる。

今回尿路上皮癌において E-カドヘリンの免疫組織学的発現が悪性度・浸潤度に相関することを示したが、今後はカドヘリンの機能の発現に関して検索していく必要がある。転移巣でカドヘリンが発現していることが塩崎らのいうように強固に接着した細胞塊が転移した結果であるのか、カドヘリンは発現しているもののその機能に異常があるのか、各種カテニンやブラコグロビンを含めたカドヘリンの機能の検索が重要である。

## 結 語

尿路上皮癌30例において免疫組織学的に E-カドヘリンの発現と浸潤性・転移性について検討した。E-カドヘリンの発現が減弱しているものは全例 grade 2 以上で pT2 以上が75%を占め、high grade, high stage が有意に多く、今後予後因子のひとつとなる可能性がある。

## 文 献

- 1) Bussemakers MJG, van Moorselaar RJA, Girdoli LA, et al.: Decreased expression of E-cadherin in the progression of rat prostatic cancer. *Cancer Res* 52: 2916-2922, 1992
- 2) 竹市雅俊: 癌転移対策・転移機構に関するがん細胞の解析: がん細胞の接着と転移—カドヘリンはどう関わるか—. *Oncologia* 26: 149-156, 1993
- 3) 塩崎 均, 土岐祐一郎, 岡 博史, ほか: がんの悪性度と治療: 細胞間接着因子 (E-カドヘリン) の発現からみた癌の浸潤・転移. *Oncologia* 25: 532-536, 1992
- 4) Shiozaki H, Tahara H, Oka H, et al.: Expression of immunoreactive E-cadherin adhesion molecules in human cancers. *Am J Pathol* 139: 17-23, 1991
- 5) Takeichi M: Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science* 251: 1451-1455, 1991
- 6) 本田修司: 正常子宮頸部組織および頸部扁平上皮癌における上皮型 cadherin の発現に関する免疫組織学的解析. *日産婦会誌* 44: 517-523, 1992
- 7) Bringuier PP, Umbas R, Schaafsma HE, et al.: Decreased E-cadherin immunoreactivity correlates with poor survival in patients with bladder tumors. *Cancer Res* 53: 3241-3245, 1993
- 8) Umbas R, Schalken JA, Aalders TW, et al.: Expression of the cellular adhesion molecule E-cadherin is reduced or absent in high-grade prostate cancer. *Cancer Res* 52: 5104-5109, 1992
- 9) Carter BS, Ewing CM, Ward WS, et al.: Allelic loss of chromosomes 16q and 10q in human prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 8751-8755, 1990
- 10) Mansouri A, Sparr N, Goodfellow PN, et al.: Characterization and chromosomal localization of the gene encoding the human cell adhesion molecule uvomorulin. *Differentiation* 38: 67-71, 1988
- 11) Vleminckx K, Vakaet L Jr, Mareel M, et al.: Genetic manipulation of E-cadherin expression by epithelial tumor cells reveals an invasion suppressor role. *Cell* 66: 107-119, 1991
- 12) Doki Y, Shiozaki H, Tahara H, et al.: Correlation between E-cadherin expression and invasiveness in vitro in a human esophageal cancer cell line. *Cancer Res* 53: 3421-3426, 1993
- 13) Shimoyama Y and Hirohashi S: Expression of E- and P-cadherin in gastric carcinomas. *Cancer Res* 51: 2185-2192, 1991
- 14) Shimoyama Y, Nagafuchi A, Fujita S, et al.: Cadherin dysfunction in a human cancer cell line: Possible involvement of loss of  $\alpha$ -catenin expression in reduced cell-cell adhesiveness. *Cancer Res* 52: 5770-5774, 1992
- 15) Morton RA, Ewing CM, Nagafuchi A, et al.: Reduction of E-cadherin levels and deletion of the  $\alpha$ -catenin gene in human prostate cancer cells. *Cancer Res* 53: 3585-3590, 1993
- 16) Williams CL, Hages VY, Hummel AM, et al.: Regulation of E-cadherin-mediated adhesion by muscarinic acetylcholine receptors in small cell lung carcinoma. *J Cell Biol* 121: 643-654, 1993

(Received on May 13, 1994)  
(Accepted on July 29, 1994)